

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.031

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.031

组织蛋白酶参与皮肤生理的研究进展

易文娟 综述 雷铁池 审校

(武汉大学人民医院皮肤科, 武汉430060)

[摘要] 组织蛋白酶(cathepsin, Cat)是半胱氨酸蛋白酶家族的主要成员, 与皮肤肿瘤、慢性炎症等多种皮肤病密切相关。近年来多项研究表明Cat在人类皮肤生理方面的重要意义, 主要集中于CatD/CatL/CatV维持表皮正常分化和完整屏障, CatB/CatD/CatG/CatK维持真皮细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的稳态, CatV保证毛囊正常发育和生长周期。这些研究已深入细胞信号、基因调控, 增进对正常皮肤生理调控的理解, 未来也可能应用到疾病的基因治疗领域。

[关键词] 组织蛋白酶; 表皮屏障; 真皮细胞外基质; 毛囊

Advances of cathepsin in skin physiology

YI Wenjuan, LEI Tiechi

(Department of Dermatology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract Cathepsins (Cat) are the main members of the cysteine protease family, and relate closely to some dermatosis, for example, cutaneous tumor, chronic inflammation. Many recent investigations manifest cathepsin's significance in skin physiology as followed: CatD/CatL/CatV maintain normal epidermal differentiation and intact barrier; CatB/CatD/CatG/CatK keep the homeostasis of extracellular matrix (ECM); CatV insure of normal development and growth cycle of hair follicle. Those studies have been deepen in cell signals and gene regulations, and increased the understanding about the regulation of normal skin physiology. It's also possible to apply to the gene therapy field in the future.

Keywords cathepsin; epidermal barrier; extracellular matrix; hair follicle

蛋白酶是人体内蛋白水解的主要参与者, 根据蛋白水解机制可分为半胱氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶和金属蛋白酶。其中半胱氨酸蛋白酶研究较多, 最大的亚族是木瓜蛋白酶类半胱氨酸蛋白酶, 广泛存在于人、哺乳动物、植物及病原微生物中。人体中

各组织蛋白酶(cathepsin, Cat)具有氨基酸序列的同源性, 且和木瓜蛋白酶有相似性, 故均属于木瓜蛋白酶家族。人半胱氨酸家族Cat分为CatB, CatC, CatF, CatH, CatK, CatL, CatO, CatS, CatV, CatX, CatW等11个类型。Cat是一类主要存在于溶酶体内的胞内蛋白水解酶, 弱酸性环境易

收稿日期 (Date of reception): 2017-06-09

通信作者 (Corresponding author): 雷铁池, Email: lei86308656@163.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81371717)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81371717).

被活化, 碱性和中性环境不稳定(除CatD, CatE, CatS外)^[1]。在皮肤科领域, Cat的研究主要集中在皮肤肿瘤及炎症性皮肤病。近年来其在正常皮肤生理方面的研究也不断深入, 本文从表皮分化和屏障、真皮细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、毛囊发育等方面进行综述分析, 深入了解Cat在皮肤生理状态下的重要作用, 对于治疗皮肤病理状态, 更能有的放矢。

1 表皮分化和屏障

人类皮肤是机体面积最大的器官。皮肤的主要功能是外界环境的保护屏障, 如热、紫外线(ultraviolet, UV)辐射、感染、损伤及水分丢失等。人类皮肤包括表皮层(最外层)、真皮层、皮下组织以及毛发、指甲等皮肤附属器。表皮层主要由角质形成细胞组成, 从浅往深分为角质层、颗粒层、棘层、基底层。角质形成细胞经过一个表皮更替周期(约28 d), 从基底层增生状态向基底浅层分化, 直至角质层剥脱代谢。皮肤, 像其他器官一样, 随着时间推移, 经受自然老化的过程^[2]。除此之外, 与其他器官不同, 皮肤持续经受来自外环境的有害张力和损伤。因此, 健康的表皮屏障依赖于正常的表皮分化和完整的皮肤结构。

Cat在角质形成细胞(keratinocyte, KC)正常增殖和分化过程及维持表皮屏障的完整性中, 起至关重要的作用, 也是近几年研究的热点。这方面研究主要集中在CatD, CatL, CatV三型。Igarashi等^[3]通过免疫荧光实验表明CatD表达在角质层脂质包膜, 免疫电镜技术证实其在细胞桥粒上表达。根据CatD在表皮中的定位, 可以推测其通过降解桥粒而导致脱屑。而在银屑病皮损中, 研究^[4]发现CatD在表皮层各层表达, 除了角质层。以上提示, CatD过早激活, 会影响KC分化的有序过程, 角质层过早剥脱会破坏表皮屏障。故CatD与KC的分化有关, 其在KC不同分化阶段表达水平不同。

有研究^[5]表明深肤色人群表皮及角质层CatV表达较低, 其表皮剥脱较慢, 且灰皮病流行率增高。Cystatin M/E是半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 抑制靶蛋白激酶CatL, CatV, 可控制CatL, CatV和谷氨酰胺转移酶-3的活性。CystatinM/E(CST6)在Cst6^{-/-}小鼠(即cystatinM/E蛋白敲除小鼠)中, 因为引起过多的经表皮水分丢失(trans-epidermal water loss, TEWL)而导致新生小鼠死亡^[6]。可推测CatL, CatV减少TEWL, 参与表皮屏障保护。

2 真皮 ECM 改变

哺乳动物皮肤除主要由角质形成细胞组成的固如城墙般的表皮层以外, 还有供给营养成分, 提供支撑作用的真皮层。随着年龄的增长, 真皮层的萎缩、胶原蛋白和/或弹力蛋白变性是常见的组织学改变, 超微结构研究^[7]表明老化皮肤的改变主要在真皮ECM。

长期暴露于UV辐射下, 会导致光老化, 皮肤皱纹是其典型特征。反复暴露于UV, 减少原胶原蛋白的产生, 并分解胶原纤维, MMP上调是部分原因。Son等^[8]研究表明CatG调节MMP的表达, 以及UVB促光老化过程。CatG是30 kDa多肽, 由中性粒细胞或UVA刺激正常成纤维细胞(fibroblast, FB)释放。CatG的抑制剂可能有助于抑制UVB导致的光老化, 因为其可以减轻ECM损伤, 下调MMP。Serpins b6是丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族成员。Serpins和丝氨酸蛋白酶结合, 参与炎症过程、纤维化、肿瘤形成和凋亡等, 并推测二者的结合可抑制CatG的活性。Kim等^[9]用无毛小鼠的体内试验研究可可豆提取物抗UVB老化作用, 结果表明CatG及其抑制剂Serpins B6c在其中发挥重要作用, 可作为生物标志。

CatS在心血管疾病中研究广泛, 主要研究其在动脉粥样硬化和保持心血管壁的完整性方面的作用^[10]。因为CatS有潜在的弹性组织溶解和非纤维化胶原溶解活性, 故推测在皮肤真皮ECM中也有重要作用。CatS能降解一些ECM蛋白, 但更倾向于将弹性蛋白剪切为具有生物活性的弹性蛋白片段。CatS被证明在ECM蛋白(如弹性蛋白、胶原纤维)重塑中起重要作用^[11]。

CatK被认为具有最大的弹性组织和胶原溶解活性, 是其他Cat的3.3~10倍, 因为CatK能在天然三螺旋结构和端肽的多个位点解链I型胶原^[12]。这种广泛的解链位点是特有的, 其他Cat只在端肽起作用, MMP只作用于I型胶原的三螺旋结构的一个位点。尽管CatK最初报道其在破骨细胞中表达和调控, 但最近研究^[13-14]发现也表达在其他组织, 包括皮肤。CatK在正常皮肤组织和硬皮病中不表达, 而在疤痕组织、基底细胞和鳞状细胞癌周组织中高表达, 表明CatK基质蛋白降解特性可能有助于维持ECM的稳态, 拮抗真皮纤维化过程^[13]。Codriansky等^[13]研究发现: 短期UVA照射可诱导CatK在人体皮肤真皮层及体外培养的FB中表达升高。UVA促进人原代FB高表达CatK, 其可能

机制是通过激活MAPK/AP-1通路, 调控MMP转录和CatK表达^[14]。对抗光老化化学成分的选择, 目前关注点主要集中在通过抑制UV激活MAPK途径致使MMP降解的能力, 未来策略也可能开始关注对CatK表达的影响。

正常皮肤组织中, Cat及其抑制剂处于一个平衡状态, 也进一步控制MMP和组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP)的平衡。一旦这些平衡打破, 皮肤的稳态就遭受一定的打击, 出现ECM降解, 形成皱纹等。赖维及其团队研究^[15]表明: 慢性UV辐射下, 细胞实验中CatB, CatD, CatK表达量降低, 而CatG表达量增高, 并认为CatB, CatD, CatK, CatG可作为光老化皮肤的生物学标志物。

3 毛囊发育

人类毛发不仅起美观的作用, 其构成的表皮-毛囊黑素单元为不同人种的皮肤着色, 且毛囊干细胞增殖能力强, 分化移行加速表皮的修复。毛囊生长周期包括生长期、退行期和休止期。

Tobin等^[16]研究者通过光学显微镜和电镜检测CatL缺失在毛囊发育和周期的作用, 发现Ctsl^{-/-}小鼠(即CatL敲除的小鼠)的毛囊形态有一些异常: 在毛管形成过程中角质形成细胞终末分化受损, 导致毛干的长出中断; 角质形成细胞和黑素细胞的增殖和凋亡水平高于Ctsl^{+/+}小鼠毛囊; 毛囊着色单元的发育被黑素细胞分化过程形成的空泡状态阻断; 毛囊形态和毛囊周期的最后阶段停滞, 休止期缩短而过早进入第一生长阶段。可见, CatL调控角质形成细胞和黑素细胞的生成和分化, 在小鼠毛囊发育及生长周期中扮演非常重要的角色。人类基因包括两个高度同源CatV(CTSV, 也称为CTSL2)和CatL(CTSL, 也称为CTSL1)。然而, 小鼠基因只包括CatL基因。较之人CatL, 小鼠CatL与人CatV有更大的同源性, 约75%的相同蛋白质序列^[17]。故作者推测组织蛋白酶V在人类毛囊中也有相似功能。

溶酶体半胱氨酸蛋白酶CatL缺失的小鼠, 出现复杂的皮肤分型包括周期性毛发脱落、表皮增生、基底层角质形成细胞增生、棘层肥厚及角化过度。Hagemann等^[18]将表达CatV转基因小鼠和CatL敲除的同类型小鼠杂交, 发现子代皮肤和毛发正常, 补偿了CatL^{-/-}的缺陷, 也进一步说明CatV维持人类皮肤和毛发稳态。

半胱氨酸蛋白酶抑制剂cystatin M/E抑制靶蛋

白激酶CatL和CatV, 是导致表皮终末分化的关键调控者。Cheng等^[19]对人类毛囊和甲进行免疫组织化学和免疫荧光实验, 发现CatL和谷氨酰胺转移酶-3特异性地共表达于毛球和甲床, 且发现谷氨酰胺转移酶-3和兜甲蛋白、内披蛋白共表达。该发现也提示: CatL参与到人类毛囊和指甲的终末分化。

4 结语

近年来, 皮肤科领域深入研究Cat对皮肤生理的影响, 集中在CatD, CatL, CatV对表皮分化和结构的维持; CatB, CatD, CatG, CatK对真皮ECM稳态的平衡; CatV对正常毛囊发育和生长周期的调控。这些研究已深入细胞信号、基因调控方面, 增进了对正常皮肤生理调控的理解, 甚至可能应用到疾病的基因治疗领域。但是, 在体试验局限于动物试验, 尚无临床方面的研究。由于仅表达于人类的CatV和小鼠CatL具有很高的同源性, 故动物试验往往用小鼠的CatL来进行, 尚需要进一步更深入直接的研究。随着Cat抑制剂的功能研究的深入, 寻找相应的高选择性、可逆性的抑制剂应用于临床疾病治疗或皮肤老化的预防, 也是值得进一步探讨的热点。

参考文献

1. 曾广智, 谭宁华, 贾锐锐, 等. 组织蛋白酶及其抑制剂研究进展[J]. 云南植物研究, 2005, 27(4): 337-354.
ZENG Guangzhi, TAN Ninghua, GU Ruirui, et al. Cathepsins: structures, functions and inhibitors[J]. Acta Botanica Yunnanica, 2005, 27(4): 337-354.
2. Quan T, Fisher GJ. Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini-review[J]. Gerontology, 2015, 61(5): 427-434.
3. Igarashi S, Takizawa T, Takizawa T, et al. Cathepsin D, but not cathepsin E, degrades desmosomes during epidermal desquamation[J]. Br J Dermatol, 2004, 151(2): 355-361.
4. Abdou AG, Maraee AH, Shoeib MA, et al. Cathepsin D expression in chronic plaque psoriasis: an immunohistochemical study[J]. Acta Dermatovenerol Croat, 2011, 19(3): 143-149.
5. Rawlings AV. Ethnic skin types: are there differences in skin structure and function?[J]. Int J Cosmet Sci, 2006, 28(2): 79-93.
6. Zeeuwen PL, van Vlijmen-Willems IM, Cheng T, et al. The cystatin M/E-cathepsin L balance is essential for tissue homeostasis in epidermis,

- hair follicles, and cornea[J]. *FASEB J*, 2010, 24(10): 3744-3755.
7. Fisher GJ, Varani J, Voorhees JJ. Looking older: fibroblast collapse and therapeutic implications[J]. *Arch Dermatol*, 2008, 144(5): 666-672.
 8. Son ED, Shim JH, Choi H, et al. Cathepsin G inhibitor prevents ultraviolet B- induced photoaging in hairless mice via inhibition of fibronectin fragmentation[J]. *Dermatology*, 2012, 224(4): 352-360.
 9. Kim JE, Song D, Kim J, et al. Oral supplementation with cocoa extract reduces UVB-induced wrinkles in hairless mouse skin[J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(5):1012-1021.
 10. Platt MO, Shockey WA. Endothelial cells and cathepsins: Biochemical and biomechanical regulation[J]. *Biochimie*, 2016, 122: 314-323.
 11. Ahmad S, Siddiqi MI. Insights from molecular modeling into the selective inhibition of cathepsin S by its inhibitor[J]. *J Mol Model*, 2017, 23(3): 92.
 12. Codriansky KA, Quintanilla-Dieck MJ, Gan S, et al. Intracellular degradation of elastin by cathepsin K in skin fibroblasts--a possible role in photoaging[J]. *Photochem Photobiol*, 2009, 85(6): 1356-1363.
 13. Quintanilla-Dieck MJ, Codriansky K, Keady M, et al. Expression and regulation of cathepsin K in skin fibroblasts[J]. *Exp Dermatol*, 2009, 18(7): 596-602.
 14. Xu Q, Hou W, Zheng Y, et al. Ultraviolet A-induced cathepsin K expression is mediated via MAPK/AP-1 pathway in human dermal fibroblasts[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102732.
 15. Zheng Y, Lai W, Wan M, et al. Expression of cathepsins in human skin photoaging[J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2011, 24(1): 10-21.
 16. Tobin DJ, Foitzik K, Reinheckel T, et al. The lysosomal protease cathepsin L is an important regulator of keratinocyte and melanocyte differentiation during hair follicle morphogenesis and cycling[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(5): 1807-1821.
 17. Puente XS, Sánchez LM, Overall CM, et al. Human and mouse proteases: a comparative genomic approach[J]. *Nat Rev Genet*, 2003, 4(7): 544-558.
 18. Hagemann S, Günther T, Dennemärker J, et al. The human cysteine protease cathepsin V can compensate for murine cathepsin L in mouse epidermis and hair follicles[J]. *Eur J Cell Biol*, 2004, 83(11/12): 775-780.
 19. Cheng T, van Vlijmen-Willems IM, Hitomi K, et al. Colocalization of cystatin M/E and its target proteases suggests a role in terminal differentiation of human hair follicle and nail[J]. *J Invest Dermatol*, 2009, 129(5): 1232-1242.

本文引用: 易文娟, 雷铁池. 组织蛋白酶参与皮肤生理的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(9): 1950-1953. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.031

Cite this article as: YI Wenjuan, LEI Tiechi. Advances of cathepsin in skin physiology[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(9): 1950-1953. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.09.031